

蛍光法による海苔排水処理能の評価法

本間 啓子, 兼今 慎悟*, 山崎美智子**, 摩郷 則雄*, 馬渡 一浩

KEY WORDS

laver, drainage, phycoerythrin, flocculant, fluorometry

はじめに

海苔の製造過程で生ずる産業排水は海苔くずを含んでいるが、これまでは生活排水路に放流されてきた。この排水は排水路で一定時間が経過すると赤色を呈する。さらに放置されると腐敗臭を放つため、近隣住民から苦情が寄せられ、海苔生産者は早急な対策に迫られている。産業排水の処理方法には物理化学的方法と微生物を利用する方法がある^{1,2)}。微生物を用いる方法は微生物の管理が難しく簡易ではない。一方、物理化学的方法はアルミニウム塩や鉄塩などの無機凝集剤や有機高分子凝集剤などで汚染物質を凝集沈殿させて除去する方法で、浄水場での処理や工業廃水の一次処理に用いられている。凝集沈殿法で海苔排水を処理する場合、汚染の原因物質を同定し、それに適した除去方法を選択し、適切に除去できたかどうかを評価する必要がある。

海藻に含まれている主な色素は、その色によって緑色はクロロフィル、黄色はキサントフィル、青色はフィコシアニン、赤色はフィコエリスリンである。フィコエリスリンは赤色の色素たんぱく質で可視部に吸収があり、蛍光を示すことが知られている^{3,4)}。フィコエリスリンは蛍光の励起波長が広範囲であること、温度やpHの影響を受けにくいこと、水溶性でタンパク質などを結合させても励起蛍光スペクトルが影響されないことから抗体などの標識に使用され臨床検査や生命科学の研究に広く用いられている。

今回、我々はこの汚染の原因物質が海苔赤色色素であるフィコエリスリンではないかと考え、原因物質の特定、およびその定量方法を確立し、凝集剤による排水処理の効力を評価する方法について検討した。

実験方法

1) 測定機器

分光測定は日立200-20型分光光度計、蛍光測定は日立F-200型蛍光光度計を用いた。

2) モデル排水の調整

海苔の製造過程で生ずる産業廃水は海苔くずを含む水である。実験用にモデル排水を以下のように調整して用いた。砕いた海苔1.5gを水道水1000mlに加え、軽く攪拌した。室温に4時間放置後の上澄み液をモデル排水とした。

3) 凝集剤処理

凝集剤は摩郷社製の「かわせみ」と今回改良した「新かわせみ」を用いた。モデル排水に凝集剤を加えて5分間静置した。そのろ液を凝集剤処理液として実験に用いた。

結果と考察

1) 海苔排水の原因物質の同定

海苔排水の赤色物質を特定するために、モデル排水の吸収および励起・蛍光スペクトルを測定し、フィコエリスリンと比較した。モデル排水の吸収スペクトルを350nmから700nmまで測定した。実験結果は示さないが、480nmから570nmにかけて幅広い吸収帯を有し、極大吸収がおおよそ500nmと560nmであった。この極大吸収波長はフィコエリスリンの極大吸収波長である490nm付近、および560nm付近とほぼ一致した⁴⁾。さらに、モデル排水の励起と蛍光スペクトルを測定した(図1)。励起スペクトルを蛍光波長575nmで測定したところ460nmから580nmの広範囲にわたる帯状のスペクトルを呈し、ピーク波長は560nmであった。また、励起波長560nmで蛍光スペクトルを測定したところ、蛍光波長のピーク波長は

金沢大学医薬保健研究域保健学系

* 株式会社 摩郷

** 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科保健学専攻

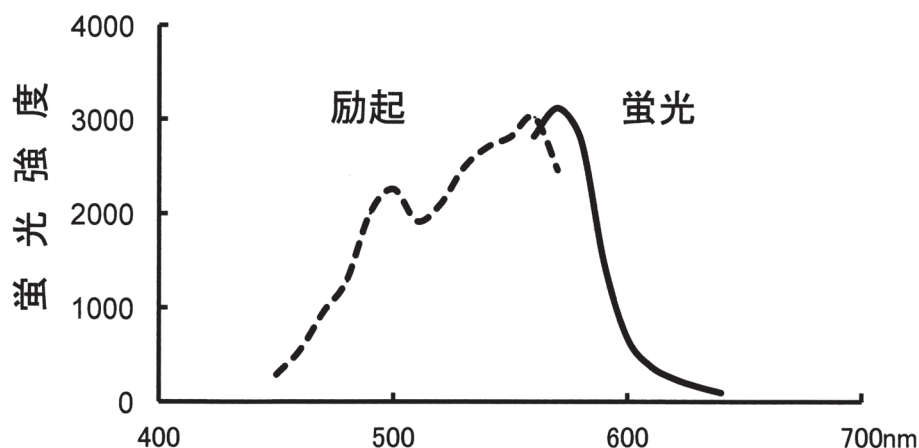


図1. 海苔排水の励起と蛍光スペクトル
モデル排水を光路長1 cmの4面透明のプラスチックキューベットを用いて測定した。励起スペクトルは蛍光波長を575nmに固定し、450nmから480nmまで測定した。また、蛍光スペクトルは励起波長を560nmに固定し、560nmから640nmまで測定した。
----蛍光スペクトル — 励起スペクトル

575nmであった。この励起と蛍光波長のピークはフィコエリスリン(励起:560nm,蛍光:575nm)とほぼ一致した³⁾。以上の結果から海苔排水に含まれる赤色色素は主としてフィコエリスリン由来であることが分かった。

2) フィコエリスリンの定量方法の検討

図1より、フィコエリスリンは励起波長を560nm、蛍光波長を575nmで測定すれば定量できると考えられる。そこで、フィコエリスリンの検量線を作成するために、モデル排水濃度を20.0, 40.0, 60.0, 80.0, 100.0%に調整し、さらに5倍希釈した溶液の蛍光強度を測定した。モデル排水濃度に対して測定値を5倍した蛍光強度をプロット

した(図2)。モデル排水の含有量と蛍光強度との間には直線性が認められ、蛍光強度からフィコエリスリンの定量が可能であることが分かった。

3) 凝集剤処理によるフィコエリスリンの除去率

海苔排水から汚染の原因物質であるフィコエリスリンが除去されると、凝集剤処理液の蛍光強度は低下すると考えられる。そこで、モデル排水に従来の凝集剤「かわせみ」と改良型の「新かわせみ」を0~400g/m³となるように添加し、5分間放置後のろ液の蛍光強度を測定した。フィコエリスリン除去率0%はモデル排水濃度100.0%の蛍光強度と同一であると考え、凝集剤処理液の蛍光強度

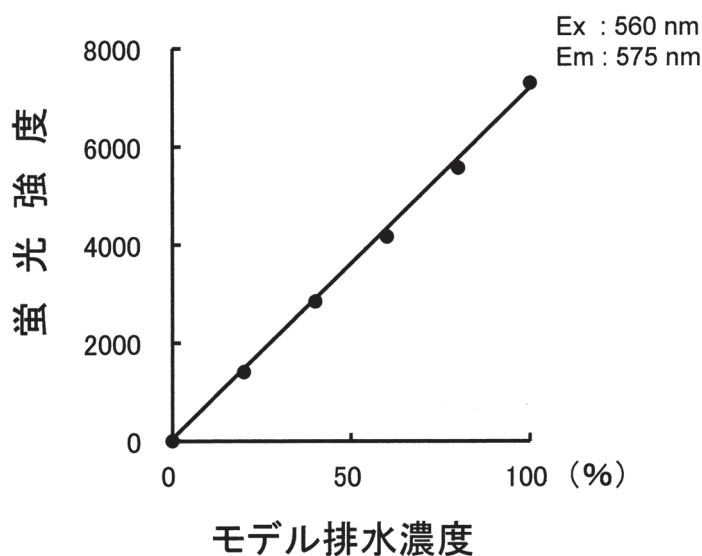


図2. フィコエリスリンの定量性
モデル排水を0.0, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0, 100.0%になるように希釈した。さらに5倍希釈した溶液を、励起波長560nm、蛍光波長575nmで蛍光強度を測定した。蛍光強度は測定値を5倍して用いた。

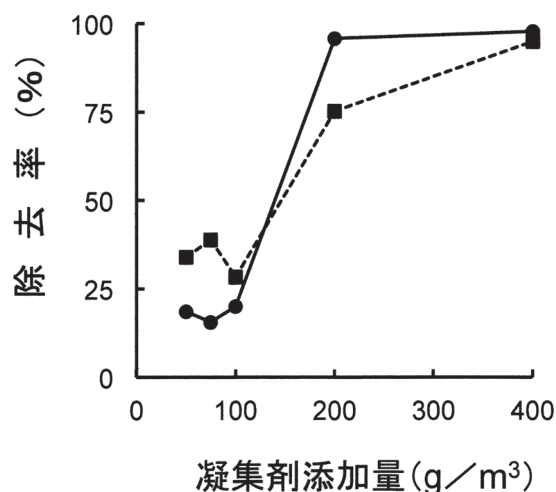


図3. 凝集剤添加量とフィコエリスリンの除去率
モデル排水に摩郷社製の「かわせみ」と「新かわせみ」を0～400g/m³になるように添加し、5分間放置後のろ液の蛍光強度を測定した。凝集剤未処理のモデル排水濃度100.0%のフィコエリスリン濃度を除去率0.0%とした。
---■---かわせみ —●—新かわせみ

から除去率を計算した。図3に凝集剤の添加量とフィコエリスリンの除去率の関係を示した。

「かわせみ」の除去率は添加量が100g/m³で28.3%、200g/m³で75.3%、400g/m³で95.0%であった。「新かわせみ」の除去率は添加量が100g/m³で20.1%、200g/m³で95.8%、400g/m³で97.8%であった。「新かわせみ」を用いると、200g/m³の添加で「かわせみ」の400g/m³の添加時の除去率とほぼ同じであった。「新かわせみ」は「かわせみ」の2分の1の凝集剤添加量で、ほぼ同じ効果が得られることが分かった。今回、原因物質が同定されたことで凝集剤に改良を加えたため、汚染物質が効率よく除去できるようになったと考えられる。

まとめ

本研究の結果から以下のことが分かった。

- 1) 海苔排水の赤色色素は主としてフィコエリスリンである。
- 2) 蛍光強度の測定からフィコエリスリンの除去率の定量的評価が可能である。
- 3) 改良型「新かわせみ」は従来品の半量で海苔排水からの汚染物質の除去が可能となった。

謝辞

この研究は石川県平成23年度後期「中小企業イノベーション（事業革新）支援プログラム」からの助成を受けて実施された。

参考文献

- 1) 栗田工業（株）：入門ビジュアル・テクノロジー よくわかる水処理技術，日本実業出版社，pp 66-79, pp 106-111, 2009
- 2) 和田洋六：よくわかる最新水処理技術の基本と仕組み [第2版]，秀和システム，pp 122-174, 2012
- 3) Bhalgat M K, Haugland R P, Pollack J S, et al: Green- and red-fluorescent nanospheres for the detection of cell surface receptors by flow cytometry. J Immunol Methods 219 : 57-68, 1998
- 4) 五十嵐久尚，細谷勇治：紅藻の色素蛋白質に関する研究：第1報フィコエリスリン，フィコシアニンの精製と吸収スペクトル，北海道大学水産学部研究集報 8 : 314-318, 1958

An Assessment Method of Laver Drainage Treatment Ability by Fluorometry

Keiko Homma, Shingo Kaneima*, Michiko Yamazaki**, Norio Magou*, Kazuhiro Mawatari